

Thesis

MUNICH

1967

**Untersuchungen zur Chemolyse
von Harnsäuresteinen**

AUGUST KALTSTEIN

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER UROLOGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. F. May

UNTERSUCHUNGEN ZUR CHEMOLYSE VON

HARNSÄURESTEINEN

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

A u g u s t K a l t s t e i n

aus München

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.Doiz. Dr. Dr. E. MATOUSCHEK

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. MAY

Dekan: Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 21.3.1967

1. Einleitung	1
2. Die Geschichte	2
3. Die geographische Lage und die klimatischen Verhältnisse	3
4. Die geologische Beschaffenheit	4
5. Die Vegetation	5
6. Die Tierwelt	6
7. Die Bevölkerung	7
8. Die Industrie	8
9. Die Verkehrsmittel	9
10. Die Verwaltung	10
11. Die Literatur	11
12. Die Kunst	12
13. Die Wissenschaften	13
14. Die Gesundheitsverhältnisse	14
15. Die Statistik	15

Meiner Mutter

GLIEDERUNG

	Seite
1. Einleitung	1
2. Die Harnsäure	2
a) physikalisch-chemische Eigenschaften	2
b) die Löslichkeitsverhältnisse	3
3. Die Harnsäuresteine	6
a) Zusammensetzung	6
b) Über die Auflösung von Harnsäuresteinen	7
4. TRIS	10
5. Versuchsanordnung	12
6. Messungen	13
7. Ergebnisse	16
8. Diskussion der Ergebnisse	30
9. Zusammenfassung	37

1. Einleitung

Die bis in die Jahrhundertwende zurückgehenden Bemühungen um eine Auflösung der Harnsäuresteine sind wieder aktuell geworden.

Das liegt vor allem an der starken Zunahme des Harnsäuresteinleidens in den letzten Jahren. Aus statistischen Untersuchungen an der eigenen Klinik geht hervor, daß im Zeitraum von 1938 - 1941 nur 5,25 % der Steinkranken Harnsäuresteinträger waren. Dieser Anteil stieg, abgesehen von einem Tiefpunkt in den Kriegs- und Nachkriegsjahren (1,6 %), um das 3,5-fache auf 18,6 % in der ersten Hälfte der 60iger Jahre an.

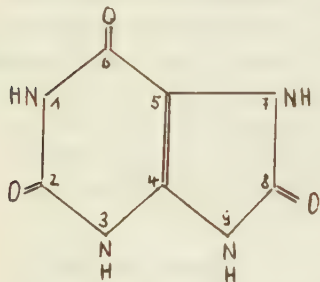
Auch andere Autoren berichten über die Zunahme des Harnsäuresteinleidens (BIBUS, ALKEN), wobei ALKEN besonders auf die hohe Recidivhäufigkeit hinweist, die nach seinen Angaben über 50 % der Harnsäuresteinträger betrifft.

Hieraus erklären sich die verstärkten Anstrengungen um eine erfolgreiche konservative Behandlung der Harnsäuresteine (ATSMON 1963, BIBUS 1963, KOLLWITZ 1964 u.a.), die auch der Anlaß für die vorliegende Arbeit wurden. Sie beschäftigt sich hauptsächlich mit klinischen und experimentellen Untersuchungen zur Chemolyse der Harnsäuresteine.

2. Die Harnsäure

a) physikalisch-chemische Eigenschaften

E. FISCHER (1898) hat für die Harnsäure folgende Strukturformel gefunden.



Die Verbindung ist chemisch recht beständig, aber nicht als indifferent zu betrachten. Die Reaktionen finden hauptsächlich an der Doppelbindung 4,5 statt, weil die Anlagerungsfähigkeit an C=C gesteigert ist.

Mit Laugen (OH-Gruppen) entstehen die Harnsäureglykole, Chlorierung führt zu den Harnsäurechloriden, auch Glykoll- und Halbbäther lassen sich leicht bilden. Heftigere Reaktionen verändern den Purinring der Harnsäure, so die Spaltung des Sechsrings zu Derivaten der Alloxansäure oder die Spaltung des Fünfringes zu Pseudoharnsäure. Die immer noch neueste zusammenfassende Darstellung der Harnsäurechemie stammt von H. BILTZ aus dem Jahre 1936. Auffallend sind die besonderen Aciditätsverhältnisse der Harnsäure. BILTZ fand die Acidität der Protonen in der Reihenfolge 9-3-1-7 abnehmend. Sie kommt durch Wandern des Protons von 9 nach 8 bzw. 3 nach 2 zustande und entspricht dem Konjugationsbestreben einer solchen Verbindung. Das führt zu einem energieärmeren und deswegen stabileren Zustand des Moleküls und erhöht die Acidität, denn das H des OH ist wesentlich acider als das H des NH. Dementsprechend bildet die Harnsäure mit Laugen Salze und man gelangt mit den herkömmlichen Basen zu den leichter löslichen Alkaliuraten. Eine neue chemische Verbindung ist nach E. FISCHER (1899) nicht wahrscheinlich. Die hydrolytische Aufspaltung durch Laugen wird erst bei 100° C erreicht. Dagegen ist nach BILTZ, SCHAUDER und SCHIEMANN (1936) die Oxydation der Harnsäure im mineral-sauren Medium zu Alloxan und im alkalischen zu Uroxansäure

möglich. Die Bildung der Allantoine, die bei fast allen Tieren enzymatisch abläuft, kann chemisch durch Oxydation mit KMnO_4 im alkalischen Milieu oder Methylierung und weiterer Aufspaltung erzielt werden.

b) die Löslichkeitsverhältnisse

Die Löslichkeitsverhältnisse der Harnsäure und ihrer Salze untersuchten zuerst HIS und PAUL (1900 - 1901). Sie erhielten schon sehr genaue Daten über die Löslichkeit der harnsauren Salze: GUDZENT konnte sie in etwa bestätigen (1908 - 1909).

	bei 18° C	bei 37° C
1. <u>gelöstes Na-Urat $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{Na}$</u> pro Liter H_2O	1,8328 g	1,5043 g
2. <u>gelöstes K.-Urat $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{K}$</u> pro Liter H_2O	1,5313 g	2,7002 g
3. <u>gelöstes NH_4-Urat $\text{C}_5\text{H}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{NH}_4$</u> pro Liter H_2O	0,4141 g	0,7413 g

Es existieren 2 Reihen von Uraten: die primären und sekundären. Da die sekundären aber nicht beständig sind, gelangen nur die primären zur Messung. Als Ursache der Umwandlung wird eine intramolekulare Umlagerung angenommen, entsprechend den 2 tautomeren Formen der Harnsäure: Lactamurat $\rightleftharpoons$ Lactimurat
unbeständig beständig

Der Übergang findet in statu nascendi statt.

Die freie Harnsäure ist viel weniger löslich:

Löslichkeit in 1 Liter H_2O	bei 18° C	0,0253 g
	bei 37° C	0,0649 g
(HIS, PAUL, GUDZENT, A. JUNG 1923)		

Konstanten der Harnsäure nach KOHLER

	Dissoziat.- Konstanten K_1	K_2	In 1 l Lö- sung sind enthalten	Disso- ziat.- Grad	pK_1	Mole- lar- Leit- keit
Harnsäure bei 18° C	$1,5 \cdot 10^{-6}$	$2,6 \cdot 10^{-9}$	0,0243 g	0,095	5,82	34,
Harnsäure bei 37° C	$2,3 \cdot 10^{-6}$		0,0649 g	0,075		33,

Entsprechend dem Dissoziationsgrad von 0,075 sind in einer gesättigten wässrigen Lösung bei 37° C 7,5 % der Harnsäure in das Proton und das Harnsäureanion zerfallen. Daraus berechnet sich die Dissoziationskonstante zu 0,00000358.

In diesem Zusammenhang ist zu beachten, daß in einem sauren Urin von pH 5 mit einer mittleren Harnsäurekonzentration von 40 mg % (HAUGE und HARVALD) der Gehalt an reiner Harnsäure den oben angegebenen Sättigungsgrad um etwa das 6-Fache übersteigt. Dieser hohe Übersättigungsgrad kann als Ursache für die Ausfällung der Harnsäure in Frage kommen, zumal die Harnsäure nicht in dem Maß zu stabilen, übersättigten Lösungen neigt, wie die Urate.

R. KOHLER (1913 - 1923) kam zu dem Ergebnis, daß die Harnsäure im Urin nicht in der Menge in freier Form vorliegen könne, wie dies HENDERSON und SPIRO fanden (zit. nach R. KOHLER). Sie berechneten bei normaler Acidität des Harns 75 % freie Harnsäure, bei erhöhter bis zu 97 %, wobei genaue Werte für die normale und erhöhte Acidität nicht angegeben sind.

Beistehende Abbildung aus KOLLWITZ (1964) läßt erkennen, daß bei Urin pH 6,0 45 % freie Harnsäure vorliegt, bei Urin pH 5,0 90 % freie Harnsäure.

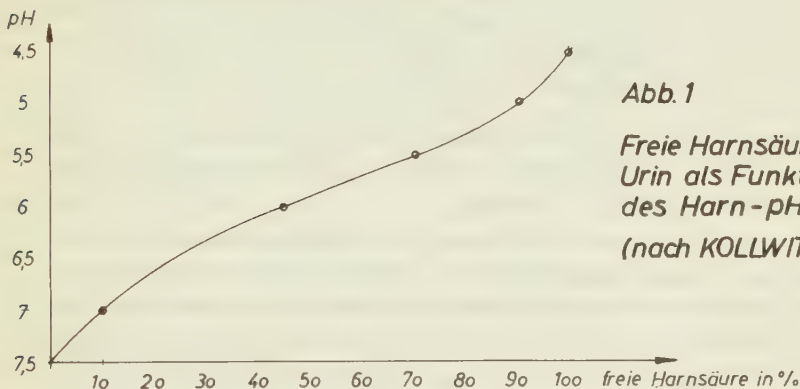


Abb. 1

*Freie Harnsäure im
Urin als Funktion
des Harn-pH
(nach KOLLWITZ 1964)*

Demnach würde die Harnsäure im sauren Urin (pH 5,0) eine Konzentration erreichen, bei der sie, gemäß ihrem Löslichkeitsverhalten, unbedingt ausfallen müßte. Die Urate sind wegen ihrer Neigung zur Übersättigung 20 - 30mal besser löslich (R. KOHLER).

A. JUNG (1930) fand, daß für die Löslichkeit der Harnsäure die Konzentration der H^+ von primärer Bedeutung sei. Die Untersuchung im pH-Bereich von 1,25 - 11,3 ergab ein Ansteigen der gelösten Harnsäure von 0,023 g/l - 6,25 g/l. Gerade am Neutralpunkt sei die Abhängigkeit vom pH sehr groß, selbst die geringe Zunahme der H^+ -Konzentration vom arteriellen zum venösen Blut verursache Löslichkeitsunterschiede bis zu 40 %.

Auch Gr. HAMMARSTEN (1929 - 1945) untersuchte experimentell die Löslichkeitsverhältnisse der Harnsäure und Urate. Sie konnte die GUDZENT'schen Löslichkeitswerte überraschend genau bestätigen; ebenso zeigte sie, wie schon R. KOHLER, die ausgeprägte Tendenz der Urate zu relativ stabilen übersättigten Lösungen.

3. Die Harnsäuresteine

a) Zusammensetzung

Die oben angegebenen Eigenschaften im Löslichkeitsverhalten der Harnsäure beziehen sich auf reine kristallisierte Harnsäure in pulverisierter Form. Im Stein liegt die Harnsäure aber als fester, (homogen) gewachsener Kristall vor.

Auf Grund der geringen Löslichkeit der Harnsäure im Vergleich zu den Uraten, ist zu erwarten, daß im Stein überwiegend reine Harnsäure vorliegt.

Diese Annahme wird bestätigt durch die Untersuchungen von KLEINSCHMIDT, der schon 1906 fand, daß 97 % der Harnsäuresteine aus reiner Harnsäure bestehen. MATOUSCHEK und HERRIG (1966) konnten erneut bestätigen, daß nur ein sehr geringer Teil der von ihnen untersuchten Harnsäuresteine Urate enthielt. Bei Berücksichtigung der übrigen Literatur findet man bis zu 20 % Urate unter den harnsauren Steinen, wobei die Frage offen bleibt, ob nicht auch dieser Anteil primär reine Harnsäuresteine waren, die sekundär Urate während des Wachstums einlagerten.

Der Begriff "Uratsteine", der in der Literatur weit verbreitet ist, trifft demnach höchstens für einen bestimmten geringen Prozentsatz der Steine zu.

MATOUSCHEK und HERRIG (1966) konnten weiterhin finden, daß die von ihnen untersuchten Harnsäuresteine bezüglich der kristallinen Grobstruktur in 2/3 der Fälle monokline Formen, in 1/3 orthorhombisch-monokline Mischformen darstellten. Inzwischen wurde schon die Kristallstruktur der Harnsäure aufgeklärt (RINGATZ 1966), die also auch für den überwiegenden Teil der Harnsäuresteine mit geringen Abweichungen gelten dürfte. Sie gewährt Aufschluß über die Anordnung der Atome im Gitter, über die Entfernungen und Winkel der einzelnen Atome zueinander und damit über ihre Bindungskräfte. Besondere Berücksichtigung müssen die kristallographischen Gesetzmäßigkeiten bei der Bildung und Auflösung der Harnsäuresteine finden (s. S. 31).

b) Über die Auflösung von Harnsäuresteinen

In der konservativen Behandlung der Harnsäuresteine wurden in letzter Zeit verstärkte Bemühungen sichtbar:

SORRENTINO (1959) versuchte die fermentative Auflösung der Harnsäuresteine, die bis jetzt noch ohne Erfolg blieb. In der gleichen Richtung arbeiteten KEUTEL und GACA (1961). Über einen Fall "von Uratsteinauflösung nach Zitronensaft und Uricedin" berichtete W. SCHMELZ (1961). B. BIBUS (1963) führte seinen Patienten täglich den Saft von 2-3 Zitronen mehrere Monate zu und konnte ebenfalls in einigen Fällen röntgenologisch nachweisbare Steinauflösungen erzielen. Der Mechanismus der Wirkung bleibt allerdings noch im Dunkeln; es gibt auch keine Hinweise auf diejenige Komponente im Zitronensaft, die die lösende Wirkung ausübt.

Die EISENBERG'sche Lösung wurde über mehrere Jahre an einer großen Anzahl von Patienten von ATSMON, DE VRIES und FRANK (1963) erprobt.

Zusammensetzung der Lösung:	Acid. citricum	40,0
	Natrium citricum	60,0
	Kalium citricum	66,0
	Extract. aurantii	6,0
	Syrup simpl. ad	600,0

Sie eignet sich besonders zur Recidivprophylaxe. Bei 118 Patienten blieb im Verlauf von 2,2 Jahren in 90 % ein Steinrecidiv aus; dabei lag der Urin pH permanent um 7. Patienten, die die Therapie unterbrachen, erhielten Recidive. Auch hier ist der Wirkungsmechanismus noch nicht bekannt.

Einen Überblick über Steinlösungsversuche gibt M. STOLZE (1965). Darunter finden sich keine Auflösungen an Harnsäuresteinen. In Arbeiten von v.SENGBUSCH und TIMMERMAN kam der Komplexbildner ADTE als Lösungsmittel zur Anwendung.

Aus dem Max-Planck-Institut für Kulturpflanzenzüchtung, Abt. Experiment. Urologie, berichtete J. SÜCKER (1963) über die Entwicklung von Lösungsmitteln. Zur Anwendung kamen:

1. ADTE + Triäthanolamin
2. Lithiumsalzlösung von ADTE
3. Trinatriumsalz des ADTE

Teilweise wurde TRIS statt Triäthanolamin als Puffer zugesetzt. Für Harnsäure wurde eine günstig lösende Wirkung der Lithiumionen gefunden.

KALISTRATOS (1963) prüfte die von SÜCKER entwickelten Lösungsmittel im Tierversuch. Die Komponenten der Lösungen wurden im einzelnen auf ihre Verträglichkeit hin untersucht. Während Triäthanolamin 1%ig Schleimhautreizungen hervorruft, führt ADTE erst in höherer Konzentration zu entzündlichen Erscheinungen. Die toxische Wirkung von Lithium ist aus den Versuchen von KOLLWITZ (1964) bekannt.

Entscheidende Schlußfolgerungen für die Löslichkeit der Harnsäure ergeben sich

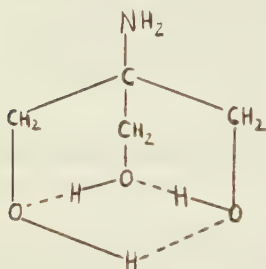
1. aus den Aciditätsverhältnissen der Harnsäure (H. BILTZ 1936). Die Harnsäure gibt ihre H^+ in 3 Stufen ab. H^+ an C_9 (in der Strukturformel der Harnsäure) ist am stärksten sauer und dissoziiert am leichtesten ab; bei Anwesenheit weiterer OH^- wird H^+ von C_3 abgegeben und nur unter starker OH^- -Einwirkung kann H^+ von C_1 abdissoziieren. Man erhält dann das Harnsäure-Anion, das leicht lösliche Salze bildet.
2. aus den Löslichkeitsversuchen von A. JUNG (s.o.), der insbesondere eine direkte Abhängigkeit der Harnsäurelöslichkeit vom pH-Wert im Sinne eines Ansteigens der Löslichkeit bei alkalischem Milieu fand.
3. aus der Tatsache, daß die Löslichkeit eines Kristalls, wie ihn der Harnsäurestein darstellt, von der Diffusion des Lösungsmittels abhängig ist. (O. KNACKE, J.N. STRANSKI 1952)

Dementsprechend kommt als Lösungsmittel für Harnsäuresteine ein "alkalisierendes Agens" in Frage, das noch nachstehende Eigenschaften besitzen soll:

1. Es sollte ein basischer Puffer von großer Kapazität und relativ niedrigem pH sein, der in der Lage ist, alle Protone der Harnsäure zu binden.
2. Der Pufferbereich soll im alkalischen jenseits von pH 7,5 liegen, um die "totale Dissoziation der Harnsäure" zu erreichen, denn unter pH 7,5 ist noch freie Harnsäure beständig.
3. Die Reaktion mit anderen Elementen des Harns soll möglichst gering sein.
4. Der Puffer muß gut an die Orte des Steinwachstums zu bringen sein und darf dabei seine Kapazität nicht wesentlich einbüßen.
5. Nicht zuletzt ist auf physiologische Anwendbarkeit und möglichst geringe Toxizität zu achten.

4. TRIS (Trihydroxymethylaminomethan)

In dem aus der Chemie schon seit langem bekannten TRIS wurde ein Puffer gefunden, der diesen Vorstellungen nahekommt. Es ist ein Amino-Alkohol, dessen Strukturformel sich durch intramolekulare H-Brücken auszeichnet (BENESCH).



TRIS ist eine weiße, kristalline Substanz vom Molekulargewicht 121,136. In H_2O ist TRIS leicht und vollkommen löslich. Dabei reagiert es als schwache Base und kann Protonen binden:



Laut dem pK-Wert von 7,82 bei 37° C erstreckt sich der Wirkungsbereich des Puffers von pH 7 - pH 9. Während TRIS mit Schwermetallkationen Komplexe bildet (Ag, Al, Cu, Zn, Ni), fällt mit Ca kein Niederschlag aus (zit. nach MEISINGER 1965).

Klinisch wurde TRIS zur Korrektur von Acidosen verwendet. Dabei erwies es sich als stark wirksam; überschüssige H^+ werden rasch gebunden. In der Niere wird TRIS durch die Glomeruli filtriert und bei Überschreiten einer Konzentrationsschwelle von 15 m Val/l auch tubulär sezerniert. In der ersten Stunde nach einer TRIS-Injektion wurden 25 - 35 % im Urin wiedergefunden (zit. nach MEISINGER 1965). Nach 72 Stunden wurden 60 % der infundierten TRIS-Menge im Harn ausgeschieden.

TRIS zeigt eine geringe Toxizität, die sich vor allem aus dem pH von 10,4 einer blutisotonen 0,3 molaren Lösung erklärt. Dosen von 3 - 5 m M/kg KG wurden in allen

Fällen gut vertragen. (BERMAN, BROWN, zit. aus MEISINGER)
Die Wirkungen auf Schleimhäute untersuchte KALISTRATOS
(1963) im Tierversuch. TRIS erwies sich als sehr gut
verträglich und zeigte in 1%iger Konzentration "keinerlei
Schleimhautreizung".

Die pharmakologischen Wirkungen von TRIS sind einerseits
darauf zurückzuführen, daß es leicht diffundiert, weil
es nicht zur Mizellenbildung an Grenzflächen neigt und
dadurch in die Zelle eindringen und wieder austreten
kann, ohne Membraneigenschaften zu beeinflussen (zit.
aus MEISINGER). Andererseits erklärt sich seine Wirkung
aus der auffallend großen Kapazität als Puffer im neutra-
len bis schwach basischen Bereich, der überschüssige
 H^+ rasch beseitigt und dadurch alle sauren Valenzen ent-
wertet.

Aus diesen Gründen und unter Berücksichtigung der geringen
Toxizität, vor allem auf Schleimhäute, im Vergleich zu
anderen Puffern (Triäthanolamin), wurde TRIS für die
Versuche zur Chemolyse der Harnsäuresteine ausgewählt.

5. Versuchsanordnung

1. Für die TRIS-Harnsäurelösungsversuche wurden kristallines TRIS p.a. der Firma C.F. Boehringer und Söhne und Harnsäurekristallin p.a. der Firma Merck verwendet. Die Substanzen wurden auf 0,0001 g genau eingewogen und mit aqua bidest angesetzt.
 - a) Versuche wurden in 100 ml Lösungsvolumen im Erlenmeyer-Kolben mittels Magnetrührer
 - aa) bei Zimmertemperatur (20° C)
 - bb) bei 37° C im Thermostatendurchgeführt.
 - b) Kontrollversuche in 1000 ml Lösungsvolumen wurden in Bechergläsern bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Nach den Versuchen wurden die Lösungen mit einer geeigneten Lampe schräg durchleuchtet, um das Tyndall-Phänomen zu prüfen.
2. Für die Steinlösungsversuche kamen 2 Versuchsanordnungen zur Anwendung:
 - a) Reagenzgläser wurden mit TRIS-Lösungen jeweils verschiedener Konzentration gefüllt und durch ein entsprechendes Gestell im Thermostaten fixiert. Der zu lösende Stein hing von einer Aufhängevorrichtung an einem Faden frei im Lösungsmittel, das auf 37° C gehalten und nicht erneuert wurde.
In Kontrollversuchen wurde das Lösungsmittel erneuert.
 - b) In einem Thermostaten wurde ein 1-Liter-Gefäß mit empfindlich regelbarem Abflußhahn angebracht; darunter befand sich ein kleines Plexiglasschälchen, in dem der Stein lag. Das obere Gefäß wurde auf langsames Zutropfen eingestellt, so daß in 12 Stunden etwa 1 ltr. Lösungsmittel durchtropfte. Das abtropfende Lösungsmittel aus dem Schälchen wurde von einem darunterstehenden Becherglas aufgefangen, um darin die Harnsäure enzymatisch zu bestimmen. Das ganze System wurde auf 37° C gehalten.

Tabelle VIII

Steinlösungsversuche an Harnsäuresteinen der untersuchten Patienten.

Versuchsanordnung 2 b) (s.o. S. 12) 7 Harnsäuresteine

TRIS g/100	Steingew. mg vor Lösung	pH der Lösung	Zeit (Std.)	Steingew. mg nach Lösung	Löslich- keit in %	wiederge- fund. Harns. i. Lösg. mg
3	365	10,3	168	0	100	-
1	310	10,2	168	0	100	-
1	215	10,2	48	6	98	136
0,5	161	10,1	48	3	98	118
0,3	90	9,9	48	4	95,5	68
0,2	84	9,8	43	20	69	32
0,1	40	9,7	43	19	52	10

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich die untersuchten Harnsäuresteine in 1,1-(1,0 - 1,2%) %iger TRIS-Lösung zu etwa 99 %, in 0,39-%iger (0,3 - 0,5) TRIS-Lösung zu etwa 98 %, in 0,14-%iger (0,1 - 0,2) zu 67 % und in 0,06-%iger TRIS-Lösung zu 35 % gelöst haben.

Patient Lâ erhielt am 25.5.65 10-12 Uhr eine TRIS-Infusion (500 ml TRIS, 0,3 molar enthält: 18,15 g TRIS, 0,875 g NaCl, 0,186 g KCl). Nach der Infusion wurden die Menge des ausgeschiedenen Urins (AV), der pH-Wert des Urins (pH), die Alkalireserve im Serum (AK) und die TRIS-Ausscheidung im Urin (TRIS) bestimmt. Am 26.5.65 erhielt der Patient eine zweite TRIS-Infusion, ebenfalls unter zweimaliger Kontrolle der obengenannten Werte (s. Abbildung 8 S. 28).

Patient Steinh. erhielt ab 5.6.65 elf TRIS-Infusionen unter Kontrolle der ausgeschiedenen Urin-Menge (AV), des Urin-pH (pH), des Kalium/Serum (K) und der Alkalireserve/Serum (AK) (s. Abb. 9 S. 29). (Infusion: 18,15 g TRIS, keine Elektrolyte)

g TRIS

17

16

15

14

13

12

11

10

0,8

0,7

0,6

0,5

0,4

0,3

0,2

0,1

0

AV AK pH
ml mVal/l

2000 30 80

1300 29 7,8

1600 28 7,6

1400 27 7,4

1700 26 7,2

1000 25 7,0

800 24 6,8

600 23 6,6

400 22 6,4

200 21 6,2

0 0 20

Ausgangswerte

500 ml TRIS

500 ml TRIS

TRIS

AV

AK

pH

25,5

26,5

27,5

t (Std.)

Abb. 8 TRIS-Infusion Pat. L. (s. Text S.18)

TRIS = Ausscheidung im Urin
AV = Ausscheidungsvolumen (Urin)
AK = Alkalireserve im Serum
pH = pH im Urin

Das pH-Meter wurde vor jeder Messung mit Beckman's Standardlösung geeicht.

5. Die Alkalireserve (Standard-Bicarbonat) wurde nach der Methode von SCRIBNER bestimmt. Dabei wird das Säurebindungsvermögen des Serums titrimetrisch ermittelt.
6. Die Harnsäuresteine, die schon klinisch-röntgenologisch diagnostiziert wurden, konnten mit der Murexidprobe nachgewiesen werden: Nachdem Harnsäure mit HNO_3 bis zum Verdampfen erhitzt wurde, gibt der Rückstand mit NH_3 eine purpurne, mit Kalilauge eine violette Färbung. Die Färbung verschwindet bei Erhitzen wieder (im Unterschied zu den Xanthinkörpern).
7. An elf männlichen Harnsäuresteinträgern mit einem Durchschnittsalter von 55 Jahren, die im ersten Halbjahr 1965 in der Urologischen Klinik München lagen, wurden folgende Bestimmungen durchgeführt:

Im frischgelassenen morgendlichen Nüchternurin wurden Dichte und pH-Wert bestimmt; davon wurden jeweils 40 ml zur Ermittlung der potentiellen Acidität genommen. Im Serum wurden Harnsäure, Natrium, Kalium, Calcium und die Alkalireserve gemessen.

Zwei Patienten wurde TRIS infundiert und die TRIS-Ausscheidung im Urin bestimmt, unter Kontrolle aller obengenannten Werte. Für die Steinlösungsversuche stellten diese Patienten ihre Steine zur Verfügung.

7. Ergebnisse

Die Meßergebnisse an den Patienten kommen in Tab. I und II zum Ausdruck. Bei dem angegebenen Mittelwert wurde die statistische Abweichung nicht berechnet, da die Anzahl der Patienten zu gering war. Vergleichsweise sind die Normalwerte aus der Literatur angegeben.

Tabelle I

Harnsäure/Serum, Elektrolyte/Serum, Standardbikarbonat/Serum
der Harnsäuresteinträger

Patient	Harns./ Serum mg/100ml	Na ⁺ mVal/l	K ⁺ mVal/l	Ca ⁺⁺ m/Val/l	Cl ⁻ mVal/l	Alkali- reserve mVal/l
Wedl.	6,5	166	4,75	5,0	106	21
Läß	6,8	154	3,4	4,7	112	20
Ege	3,9	158	4,8	4,4	115	19
Häm.	4,3	142	4,8	3,8	105	20
Weit	4,9	135	3,8	5,6	103	30
Steinh.	4,7	139	3,1	4,5	94	22
Wohl	4,0	143	3,9	-	100	20
Mo	5,3	140	3,7	-	110	18
Mü	5,1	145	3,4	-	108	25
Vog	6,0	146	4,25	4,55	96	28
Scher	6,8	156	4,5	4,9	107	21
Mittelw.	5,3	138	4,0		105	22
Normalw.	5,1	140	5	5	103	27

HAUGE
HARVALD
ZÖLLNER
(1963)

JAENNERET, ROSENMUND, ESSELLIER
(zit. n. Geigy, Wissensch.Tab. 1960)

Tabelle II

pH/Urin und titrierbare Acidität/Urin der Harnsäuresteinträger

Patient	pH	titrierb. Acid. mVal/100 ml
Wedl	5,1	1,7
LäB	5,3	2,3
Ege	5,25	1,8
Häm.	4,8	2,5
Weit	5,0	2,4
Steinh.	5,2	1,98
Wohl	5,1	1,78
Mo	5,0	2,2
Mü	5,2	3,02
Vog	5,15	2,8
Scher	5,5	2,1
Mittelw.	5,16	2,25
Normalw.	6,1	1,6

KOLLWITZ (1964)

KOBLET (1964)

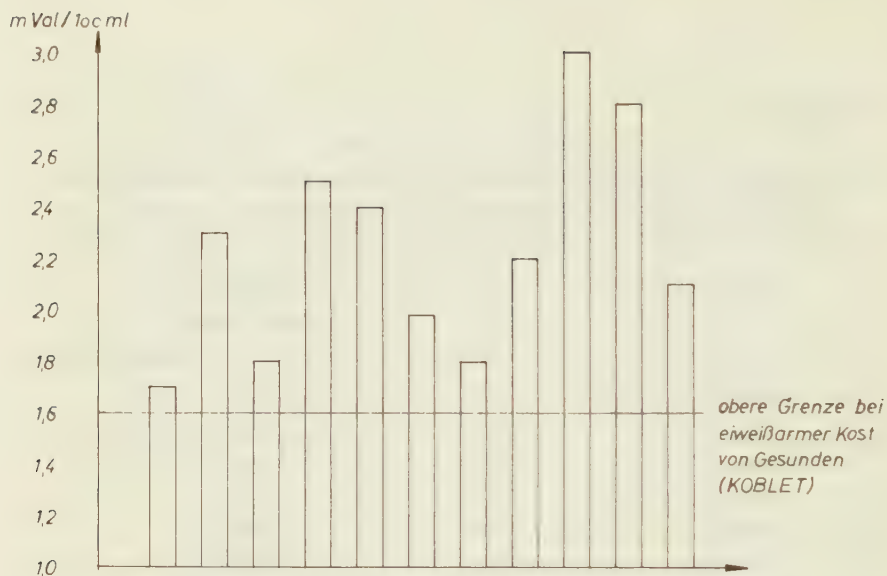


Abb.3 Titrierbare Acidität im Urin der Harnsäuresteinträger

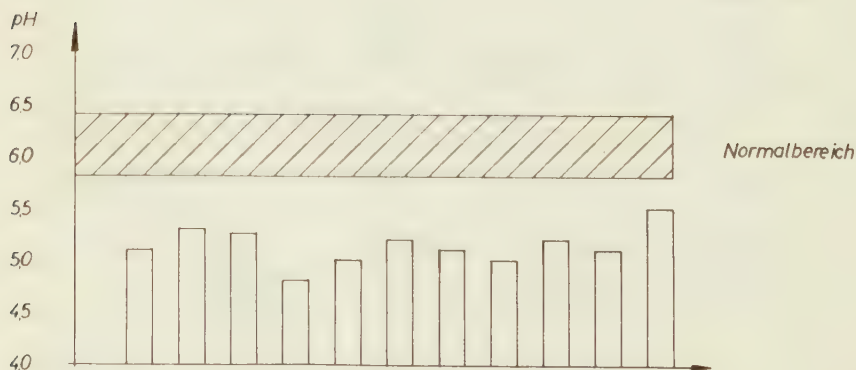


Abb.2 pH-Wert im Urin der Harnsäuresteinträger

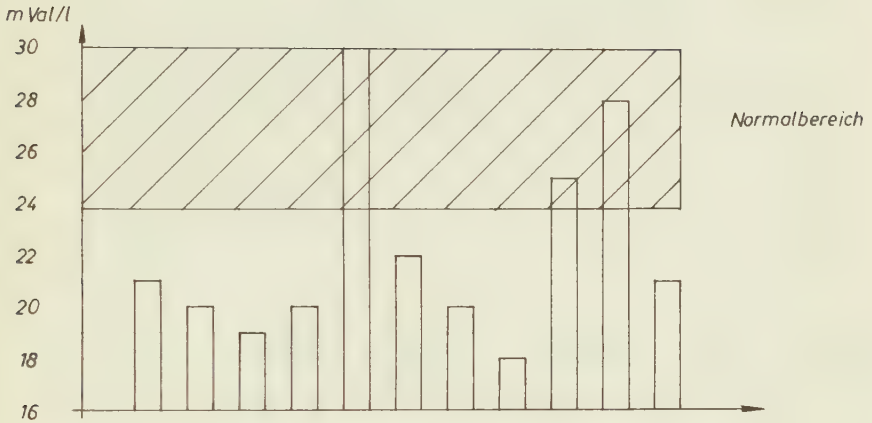


Abb.4 Alkalireserve im Serum der Harnsäuresteinträger

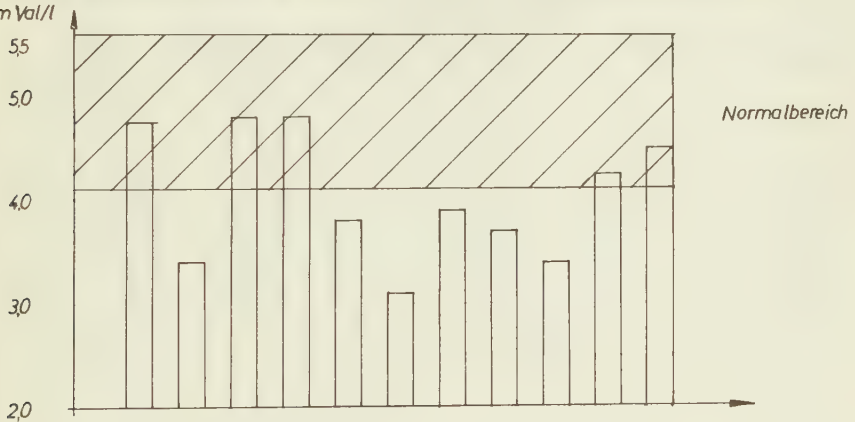


Abb.5 Kalium im Serum der Harnsäuresteinträger

Zur Untersuchung der Löslichkeitswirkung von TRIS auf Harnsäure wurde von der höchsten im Urin gemessenen Harnsäurekonzentration ausgegangen. 70 mg Harnsäure bildete in 100 ml aqua bidest zunächst einen weißen, unlöslichen Bodensatz. TRIS wurde in einer Konzentration zugegeben, wie sie die Infusionslösungen zu therapeutischen Zwecken enthalten. (3,6 % Fa. Braun, Melsungen) Dann wurden die Konzentrationen jeweils um die Hälfte erniedrigt. Das Tyndallphänomen wurde geprüft, der pH der reinen TRIS-Lösung und der TRIS-Harnsäurelösung bestimmt und die Harnsäure in der Lösung gemessen (Tab. III).

Tabelle III

Löslichkeitsverhalten von 70 mg Harnsäure in 100 ml aqua bidest bei Zugabe von verschiedenen TRIS-Konzentrationen.

Temp. 18° C

TRIS g/100ml	sof. langs. Lsg. Lsg.		Ausfällung nach				Tyndall- Phän.	Harns. nach Lsg. mg	pH	
			12	24	36				vor	nach Lösung
				Std.						
3,6	+	-	-	-	-	-	-	-	10,3	10,2
1,8	+	-	-	-	-	-	-	60,8	10,1	9,8
0,9	+	-	-	-	-	-	-	60,4	9,8	9,3
0,45	+	-	-	-	-	-	-	54,8	9,7	9,0
0,225	+	-	-	-	-	-	-	58,4	8,7	8,4

Tabelle IV bringt zum Ausdruck, daß die Lösungskapazität von TRIS für Harnsäure noch bei weitem höher liegt. Es werden einer konstanten TRIS-Lösung ansteigende Mengen Harnsäure zugefügt unter Kontrolle der einschlägigen Kriterien. Die Lösungszeit nach Schütteln der Lösung wird in Minuten angegeben.

Tabelle IV

Konstante TRIS-Lösung 450 mg/100 ml mit pH 9,7 Temp. 18° C
bei Zugabe ansteigender Harnsäuremengen in mg

Harnsäure mg	sofortige Lösung	langsame Lösung nach Schütteln	Tyndall- Phänomen	Ausfällg. nach 24 Std.	pH nach Lösung
140	+	-	-	-	8,8
210	+	-	-	-	8,6
280	-	+ (7-8 min.)	-	-	8,4
350	-	+ (7-10 min.)	-	-	8,3
420	-	+ (15 min.)	-	-	8,1
450	-	+ (15 min.)	-	-	8,0
480	-	+ (20 min.)	-	-	8,0
510	-	+ (45 min.)	-	-	7,7
540	-	keine Lösung	+	+	7,5-7,2

Tabelle V gibt die Grenze der Harnsäurelöslichkeit in TRIS-Konzentrationen an, die für die Harnsäuresteinlösungsversuche verwendet wurden. Zum Vergleich wird die Löslichkeit der Harnsäure in 100 ml H_2O und 100 ml einer entsprechenden Natronlauge von pH 9,3 angegeben. Die ersten zwei Proben lösten sich bei Erhöhung des Lösungsvolumens auf 1000 ml.

Tabelle V

Grenzen der Harnsäurelöslichkeit in bestimmten TRIS-Konzentrationen

TRIS g/100ml	Harns. g	Tyndall- Phänomen	pH	
			vor	nach Lösungsversuch
3,6	1,0	+	10,2	9,2
1,2	0,8	+	9,8	9,0
0,36	0,35	+	9,0	8,2
0,12	0,16	+	8,5	6,2
100 ml H_2O	0,005	+	7,0	5,0
100 ml NaOH pH 9,3	0,11	+	9,3	5,8

Der Einfluß der im Urin vorliegenden Kationen auf TRIS-Harnsäurelösungen wurde untersucht. Die Fällungsprodukte ergaben mikroskopisch die typischen Uratkristalle (Wetzsteinform), die Kationen konnten mittels Flammenfärbung qualitativ darin nachgewiesen werden (s. Tab. VI).

Die Kationen wurden in Form ihrer Salze (Chloride) einzeln zugegeben.

Tabelle VI

Kationeneinfluß auf TRIS-Harnsäure-Lösungen

Kationen mVal/l (Normal- werte)		Lösung		pH vor	Reaktion	pH nach	Niederschlag
		TRIS 1,2%	HARNS. 0,2%				
Na ⁺	180	+	+	9,9	klare Lösung n. 6-8 Std. Ausfall	9,3	Na-Urat
K ⁺	100	+	+	9,9	klare Lösung n. 8 Std. Ausfall	9,3	K-Urat
NH ₄ ⁺	74	+	+	9,9	Lösung n. 1-2 Std. Ausfall	9,0	NH ₄ -Urat
Ca ⁺⁺	10	+	+	9,9	keine Ausfällung	9,4	-

Tabelle VII

Steinlösungsversuche an Harnsäuresteinen der untersuchten Patienten.

Versuchsanordnung 2 a) (s.o. S. 12) 7 Harnsäuresteine

TRIS g/100	Steingew. mg vor Lösg.	pH der Lösg.	Lösungs- zeit (Std.)	Steingew. mg nach Lösg.	Löslich- keit in %
1,2	56	10,0	50	0	100
0,36	63	9,8	48	0	100
0,36	19	9,8	47	0	100
0,12	60	9,5	47	37	39
0,06	80	3,3	47	52	35
1,2 + Urin- 100ml	46	-	50	23	50
NaOH	77	9,3	48	59	26

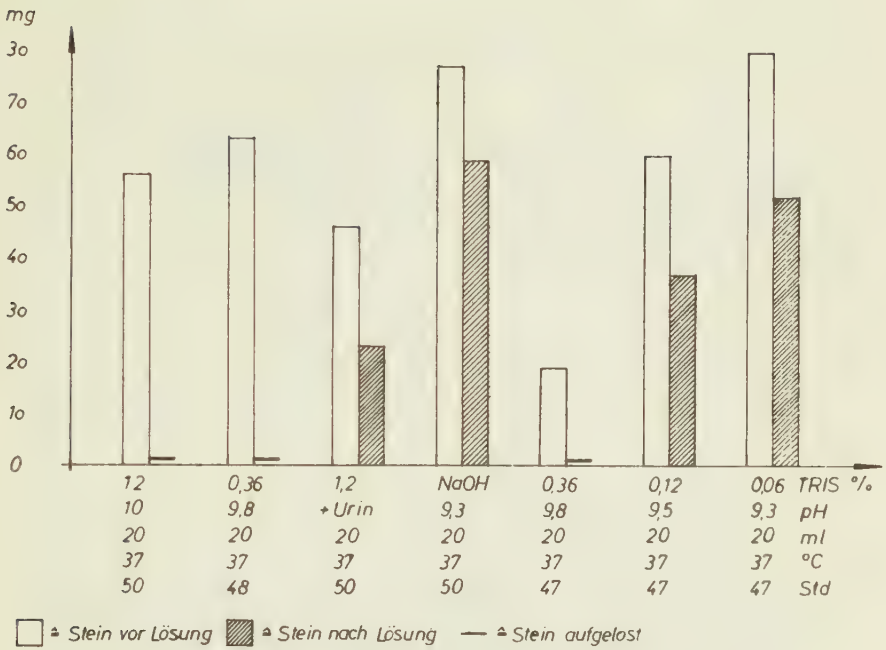
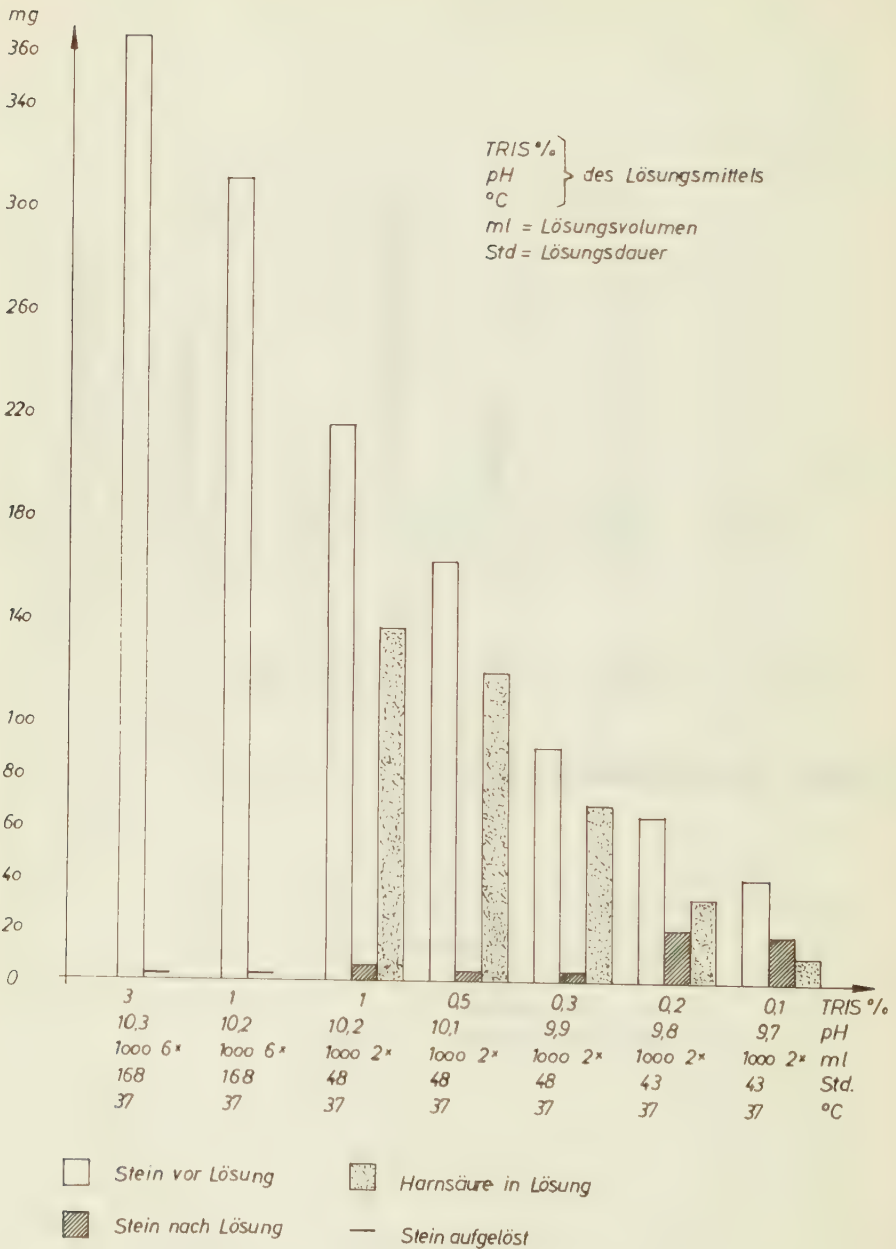


Abb. 6 Steinlösungsversuche 2a

TRIS % }
 pH } des Lösungsmittels
 °C }
 ml = Lösungsvolumen
 Std = Lösungsdauer



Rest: Epithelien, Zelldetritus, anorgan. Substanzen

Abb. 7 Steinlösungsversuche 2b

Tabelle VIII

Steinlösungsversuche an Harnsäuresteinen der untersuchten Patienten.

Versuchsanordnung 2 b) (s.o. S. 12) 7 Harnsäuresteine

TRIS g/100	Steingew. mg vor Lösung	pH der Lösung	Zeit (Std.)	Steingew. mg nach Lösung	Löslich- keit in %	wiederge- fund.Harns. i.Lösg. mg
3	365	10,3	168	0	100	-
1	310	10,2	168	0	100	-
1	215	10,2	48	6	98	136
0,5	161	10,1	48	3	98	118
0,3	90	9,9	48	4	95,5	68
0,2	84	9,8	43	20	69	32
0,1	40	9,7	43	19	52	10

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich die untersuchten Harnsäuresteine in 1,1-(1,0 - 1,2%) %iger TRIS-Lösung zu etwa 99 %, in 0,39-%iger (0,3 - 0,5) TRIS-Lösung zu etwa 98 %, in 0,14-%iger (0,1 - 0,2) zu 67 % und in 0,06-%iger TRIS-Lösung zu 35 % gelöst haben.

Patient Lâ erhielt am 25.5.65 10-12 Uhr eine TRIS-Infusion (500 ml TRIS, 0,3 molar enthält: 18,15 g TRIS, 0,875 g NaCl, 0,186 g KCl). Nach der Infusion wurden die Menge des ausgeschiedenen Urins (AV), der pH-Wert des Urins (pH), die Alkalireserve im Serum (AK) und die TRIS-Ausscheidung im Urin (TRIS) bestimmt. Am 26.5.65 erhielt der Patient eine zweite TRIS-Infusion, ebenfalls unter zweimaliger Kontrolle der obengenannten Werte (s. Abbildung 8 S. 28).

Patient Steinh. erhielt ab 5.6.65 elf TRIS-Infusionen unter Kontrolle der ausgeschiedenen Urin-Menge (AV), des Urin-pH (pH), des Kalium/Serum (K) und der Alkalireserve/Serum (AK) (s. Abb. 9 S. 29). (Infusion: 18,15 g TRIS, keine Elektrolyte)

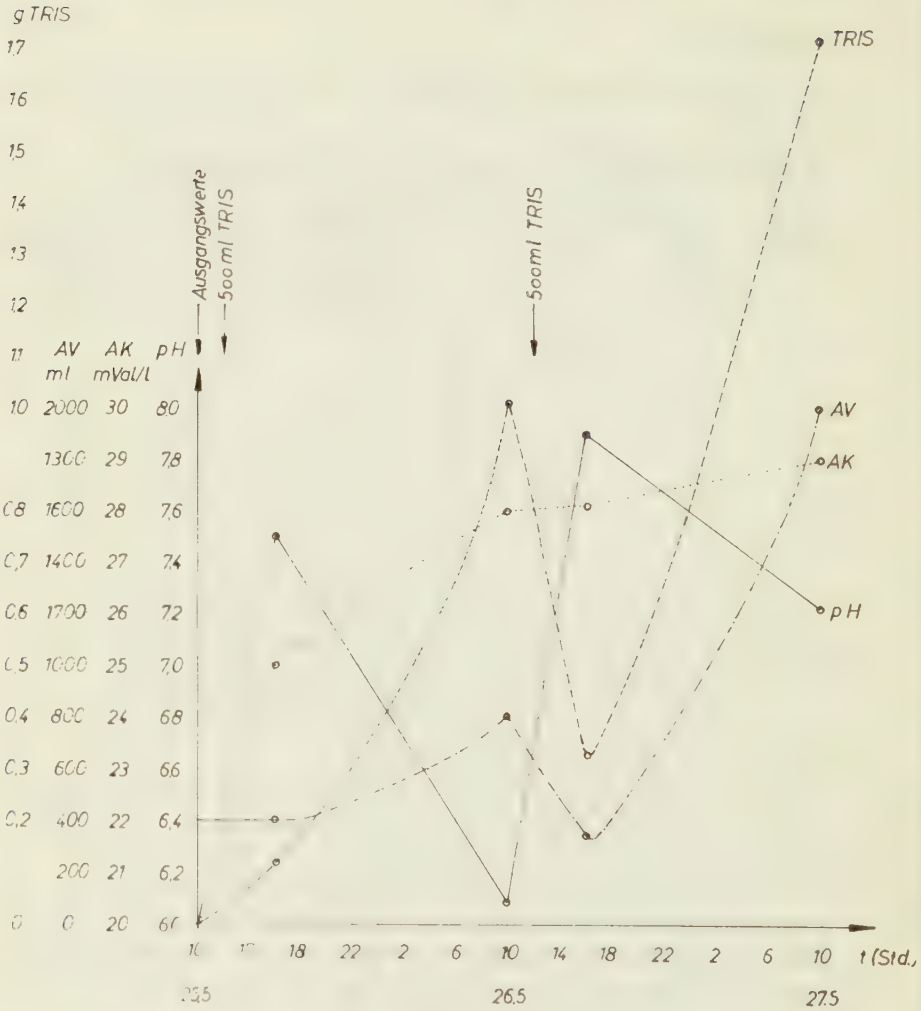


Abb. 8 TRIS-Infusion Pat. L. (s. Text S.18)

TRIS = Ausscheidung im Urin
 AV = Ausscheidungsvolumen (Urin)
 AK = Alkalireserve im Serum
 pH = pH im Urin

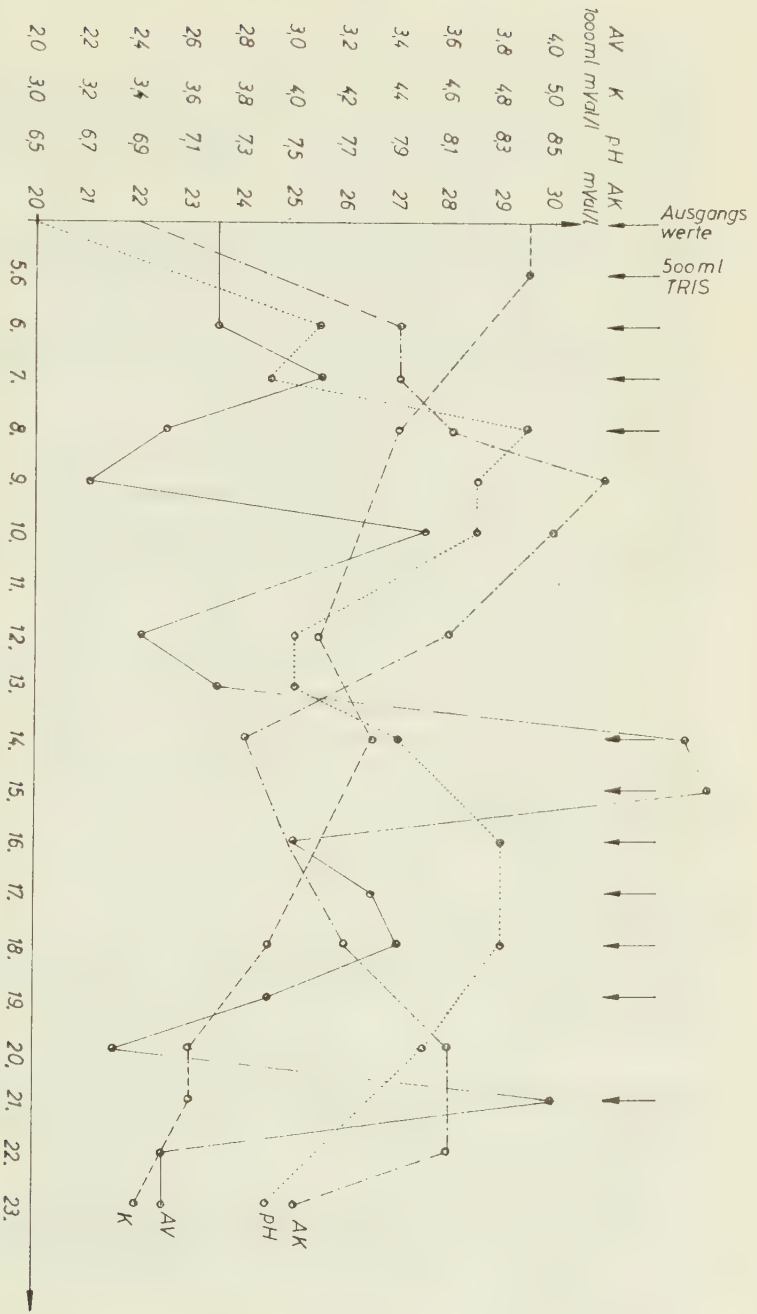


Abb. 9 TRIS-Infusion Pat. Steinh. (s. Text S. 18)

500ml TRIS enthalten 18,15g TRIS

AV = Ausscheidungsvolumen (Urin)
 AK = Alkalireserve im Serum
 pH = pH im Urin
 K = Kalium im Serum

8. Diskussion der Ergebnisse

Bei den Bemühungen um die Auflösung der Harnsäuresteine ließen sich die Fragen nach der Pathogenese nicht ausklammern.

Untersuchungen an 11 Harnsäuresteinträgern ergaben einen mittleren Urin pH von 5,16, der etwa 1 pH-Einheit unter dem Normalwert liegt. Auch die titrierbare Acidität im Urin war mit 2,25 mVal/100 ml um 0,65 mVal/100 ml erhöht (s. Tab.II). Daraus resultiert eine deutliche Acidose des Urins bei Harnsäuresteinträgern, die in der Literatur bestätigt wird. (ATSMON, 1963, KOLLWITZ, 1964 u.a.)

Die Harnsäure im Serum der Patienten war mit einem Mittelwert von 5,3 mg% gegenüber dem Normalbereich von 2,65 - 6,8 mg% (ZÖLLNER, 1963) nicht vermehrt. Ebenso fand sich, wie zu erwarten war, ein normaler Natrium-, Calcium- und Chlorid-Spiegel im Serum (s. Tab. I).

Die Harnacidose, die das einzig gesicherte Faktum in der Pathogenese der Harnsäuresteine darstellt, führt dazu, daß die freie Harnsäure gegenüber den Uraten vermehrt im Urin erscheint. Bei pH 5 liegen 90 % Harnsäure und 10 % Urate vor (KOLLWITZ) (s. Abb.I). Das führt gemäß den Löslichkeitswerten der Harnsäure (s.o.) zu erheblichen Übersättigungsgraden der Harnsäure im Urin.

Vergleicht man den gemessenen Mittelwert von pH 5,16 im Urin der Harnsäuresteinträger mit einem "Normalurin" von pH 6,1, so berechnen sich etwa folgende Übersättigungsgrade der Harnsäure im Urin bei verschiedenen Harnsäurekonzentrationen: (nach Normalwerten von ATSMON, KOLLWITZ, GUDZENT u.a.)

Konz.Harns.mg% +Urate im Urin	bei pH 5,16		bei pH 6,1	
	Konz.reine Hs.mg%	Übersätt.	Konz.reine Hs.mg%	Übersätt.
20 (niedrigster Wert im Urin)	18	3	7	0 gesätt
45 (Mittelwert im Urin)	40	6	15	2
70 (höchster Wert im Urin)	62	10	24	3-4

Die Werte sind gerundet

Die Bedeutung der hohen Harnsäureübersättigung liegt in der Beantwortung der Frage, ob und unter welchen Voraussetzungen eine Spontankristallisation der Harnsäure im Urin möglich ist. Dazu liefern kristallographische Untersuchungen von O. KNACKE (1959), O. KNACKE und J.N. STRANSKI (1952), W. KOSSEL (1938), C.W. BUNN und H. EMETT (1949) u.a. folgende Ergebnisse:

1. Die Entstehung einer neuen Phase, z.B. eines Kristalls aus der Lösung, setzt eine Übersättigung der Mutterphase voraus.
2. Die Bildungswahrscheinlichkeit der kleinsten Aggregate (Keim) ist eine außerordentlich empfindliche Funktion der Übersättigung der Mutterphase.
3. Zur Flächenkeimbildung ist eine erhebliche Übersättigung der Mutterphase notwendig.
4. An dem Flächenkeim geht das Kristallwachstum schon bei geringster Übersättigung weiter.

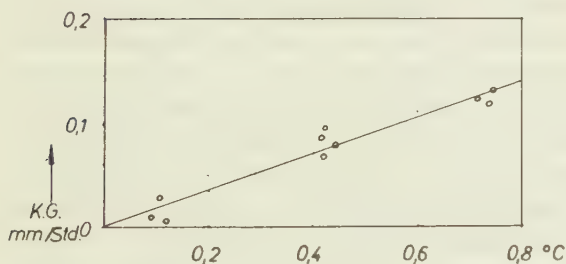


Abb. Wachstumsgeschwindigkeit von Jodkristallen in Abhängigkeit von der Übersättigung des Dampfes (nach VOLMER und SCHULTZE)

Der Dampf war bei 0° C gesättigt.
Versuchskristall 0° C.

K.G. = Kristallisationsgeschwindigkeit

5. Der prinzipielle Vorgang der "Spontankristallisation" aus übersättigter Lösung darf als bewiesen gelten.

Damit ist die Bedeutung des an Harnsäure übersättigten Urins für die Bildung von Harnsäurekristallen und für das Wachstum der Harnsäurekristalle aufgezeigt. Es erscheint zu mindest als wahrscheinlich, daß aus dem an Harnsäure übersättigten Urin eine Spontankristallisation der Harnsäure stattfindet und daß das Kristallwachstum eine Funktion der Harnsäureübersättigung im Urin ist. Die charakteristische Schichtung der Harnsäuresteine ist auf die ausgeprägte Periodik (Tag-Nacht-Rhythmus) in der Ausscheidung des Harnvolumens, der Harnsäure und der Elektrolyte zurückzuführen. (GASSER, ROSENKRANZ u.a. J. ASCHOFF 1965)

Für die Harnacidose kommen mehrere Ursachen in Betracht. Es ist nicht zu übersehen, daß die Kaliumwerte im Serum der Harnsäuresteinträger mit 4,1 mVal/l deutlich an der unteren Grenze der Norm liegen (Tab. I). Bei Kaliummangel im Serum werden kompensatorisch vermehrt H^+ in das Tubulolumen sezerniert, die zu einer Säuerung des Harns führen. (BLAND, 1959, MERRIL, 1959, KUSCHINSKY und LÜLLMANN, 1966)

In diesem Sinn muß dem Kalium eine löslichkeitsfördernde Wirkung für Harnsäure zugesprochen werden. (Im Gegensatz zur Auffassung von KOLLWITZ, 1964, S. 88)

Als weitere Ursache stünde eine Acidose jeglicher Genese zur Diskussion, denn bei der respiratorischen, sowie bei der metabolischen Acidose, versucht die Niere eine Korrektur durch vermehrte aktive Sekretion von H^+ , die ebenfalls zu einem hyperaciden Urin führen. Die Alkaliereserve im Serum der untersuchten Patienten, die deutlich unter dem Normalbereich liegt (Tab. I), kann jedoch nicht als Nachweis für eine latente Acidose angeführt werden. Hierzu wären empfindlichere Untersuchungsmethoden notwendig.

Bei den Versuchen mit TRIS fiel die hohe Lösungsfähigkeit für Harnsäure besonders auf. Die höchste, im Urin gemessene Harnsäurekonzentration von 70 mg/100ml löste sich noch in einer TRIS-Lösung von 0,07 g/100ml. Erst darunter trat eine Ausfällung ein. Bei Prüfung der noch löslichen Grenzkonzentration von Harnsäure in einer konstanten TRIS-Lösung von

450 mg/100 ml erschien erst bei 540 mg Harnsäurezugabe eine konstante Trübung. Berücksichtigt man die Molekulargewichte der Stoffe, so findet man, daß etwa 1 Mol TRIS mit 1 Mol Harnsäure reagiert, d.h. daß sie äquivalent sind (s. Tab. IV).

Besonders zu beachten ist die hohe Pufferkapazität des TRIS, die gerade bei mehrstufig dissoziierenden Säuren, wie Harnsäure, erhöht "beansprucht" wird. Eine TRIS-Lösung von pH 9,8 gab erst bei 7-fach höherer Harnsäurezugabe eine Trübung, als eine ungefähr entsprechende NaOH-Lösung (pH 9,3); dabei nahm der pH der TRIS-Lösung nur um 0,8 Einheiten ab, während der pH der NaOH-Lösung um 3,5 Einheiten in den sauren Bereich fiel (s. Tab. V).

Bei der Bestimmung der Harnsäure in den Lösungen (s. Tab. III) fehlte der Recovery ca. 15 - 20 % der zugesetzten Harnsäure; das muß Fehlerquellen bei der Harnsäurebestimmung zugeschrieben werden, denn die Lösungskapazität von TRIS für Harnsäure liegt noch bei weitem höher, wie aus Tab. IV hervorgeht.

Die im Urin vorliegenden Kationen wurden entsprechend ihren Normalwerten in Form ihrer Salze (Chloride) einzeln konstanten TRIS-Harnsäurelösungen zugegeben. Dabei bildeten sich mit K^+ , Na^+ und NH_4^+ Niederschläge, während die Lösung mit Ca^{++} klar blieb (s. Tab. VI). v.SENGBUSCH und TIMMERMAN (1963) stellten eine "ausgesprochen positive Einwirkung von TRIS auf Ca^{++} fest".

J. SÜCKER (1963) setzte seinen Lösungsstoffen teilweise TRIS als Puffer zu; er kam jedoch zu dem Ergebnis, daß die Lösungsstoffe mit TRIS sich nicht von denen ohne TRIS unterschieden. Später ließ er den TRIS-Puffer bei seinen Lösungsmitteln ganz weg, weil seine Wirkung "unbedeutend" sei. KALISTRATOS (1963), der die Komponenten der Lösungsstoffe von J. SÜCKER auf ihre Toxizität hin im Tierversuch prüfte, fand, daß TRIS am besten verträglich sei.

Ein anderer zur Diskussion stehender Puffer für die Harnsäuresteinauflösung ist Triäthanolamin. Dessen Toxizität ist

aber im Vergleich zu TRIS wesentlich größer, deshalb wurde er nicht zu Versuchen verwendet.

Im Gegensatz zu diesen Befunden von J. SÜCKER konnten in den durchgeführten Versuchen sehr gute Ergebnisse bei der Harnsäuresteinauflösung mit reinen TRIS-Lösungen erzielt werden (Tab. VII u. VIII).

Die Harnsäuresteine stammten von den untersuchten Patienten (Tab. I). Zu den Lösungsversuchen wurde von TRIS-Konzentrationen ausgegangen (3,6 %), die schon klinisch intravenös mehrfach angewendet worden waren. (ZIMMERMANN 1963) Diese Konzentrationen wurden dann um ein Vielfaches vermindert, um den wirksamen Grenzbereich herauszufinden (s. Tab. VII und VIII). Die Löslichkeit war nicht nur abhängig von der TRIS-Konzentration, sondern auch vom Lösungsvolumen, aber erst bei größeren Steinen (s. Tab. VIII). Dagegen war bei genügender TRIS-Konzentration der Wechsel des Lösungsmittels nicht entscheidend (Tab. VII). Auch die Bewegung des Lösungsmittels brachte keine wesentlich günstigeren Ergebnisse, wie der Vergleich der verschiedenen Anordnungen im Versuch zeigt. Große Steine brauchten erwartungsgemäß höhere TRIS-Konzentrationen, mehr Lösungsvolumen und längere Zeit zur Auflösung, konnten aber auch vollständig gelöst werden (Tab. VIII). Die Dauer der Versuche lag mit 2 Ausnahmen immer etwa in derselben Größenordnung von 48 Stunden.

Der Mechanismus der Harnsäuresteinlösung durch TRIS läßt sich in 2 Wirkungsphasen erklären:

Grundsätzliche Voraussetzung für den Lösungsvorgang ist eine hohe Diffusionsgeschwindigkeit des Lösungsmittels in der Lösung.

1. Es befinde sich der zu lösende Kristall mit der Oberfläche O in einem gleichmäßig bewegten Lösungsmittel. Die Sättigungskonzentration der Lösung sei C_0 , die Konzentration t Zeiteinheiten nach Beginn des Versuches C_x . An der Grenzfläche bildet sich nun eine gesättigte Lösung; sie muß in das "Innere" der Lösung, die ja weniger gesättigt ist, gelangen. Diese Diffusion bestimmt die Geschwindigkeit des Auflösungs Vorganges.

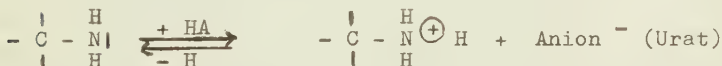
Sie ist $\frac{dc_x}{dt} = K \cdot \frac{O}{V} (C_o - C_x)$ (EGGERT, HOCK, SCHWAB, 1960)

Links in der Gleichung steht die Zunahme der Konzentration C_x in der Zeiteinheit. Sie ist proportional (K) dem Abstand, den die jeweilige Konzentration C_x noch von der Sättigungskonzentration C_o und von der Oberfläche je Volumeneinheit Lösung ($\frac{O}{V}$) hat.

Entscheidend für den Auflösungsvorgang ist also eine schnelle Diffusion des Lösungsmittels in der Lösung, um zu verhindern, daß an der Grenzfläche Stein - Lösung eine gesättigte Lösung entsteht, die den Auflösungsvorgang stoppen würde.

Von TRIS ist eine gute Diffusion an Grenzflächen bekannt (zit. nach MEISINGER 1965).

2. Der Mechanismus der TRIS-Harnsäure-Reaktion läßt sich erklären, wenn man davon ausgeht, daß TRIS als primäres Amin einen dreibindigen N enthält, der analog der Reaktion des TRIS mit Säuren, die H^+ der Harnsäure bindet. Dadurch wird das Harnsäure-Anion in Freiheit gesetzt, das (z.B. mit Kationen) leichter lösliche Salze bildet.



Es wäre noch die Möglichkeit einer Komplexbildung des TRIS mit Harnsäure zu diskutieren. Bei Kationenzugabe zu TRIS-Harnsäurelösungen findet man jedoch als Reaktionsprodukt die entsprechenden Urate, was gegen die Bildung einer stabilen Harnsäure-TRIS-Komplexverbindung spricht. (s. Tab. VI)

Die Alkoholgruppen des TRIS dürften kaum für eine Reaktion mit Harnsäure in Frage kommen, da sie reduzierend wirken.

Eine prophylaktische Wirkung des TRIS zur Verhütung der Harnacidose ist zu erwarten, denn TRIS wirkt als H^+ -Acceptor, der rasch H^+ binden kann (s.S. 10).

Nach TRIS-Infusion (Pat. Lå) (s. Abb. 8) wurden innerhalb 22 Stunden nur 6,4 % des infundierten TRIS im Urin wiedergefunden. Nach der 2. Infusion wurden im gleichen Zeitraum 11,4 % des zugeführten TRIS im Urin bestimmt. In der Literatur liegen die Werte für die TRIS-Ausscheidung im Urin höher (s.S. 10). Die diuretische Wirkung des TRIS war erst nach der 2. Infusion ausgeprägt. Der pH-Wert/Urin wurde dagegen schon nach der 1. Infusion stark alkalisch, und fiel rasch im Laufe der nächsten Stunden wieder in den sauren Bereich ab. Die Alkalireserve nahm von einem Ausgangswert um 20 mVal/l kontinuierlich auf 29 zu.

Einem 2. Patienten wurden (Pat. Steinh., s. Abb. 9) über 16 Tage 11 TRIS-Infusionen gegeben. Auch hier ist festzustellen, daß die Diurese, obwohl sehr hoch, meist verspätet auf die TRIS-Infusion einsetzte und sehr diskontinuierlich war. Der Urin pH erreichte schnell Werte um 8. Die Alkalireserve stieg auf Werte über 30 mVal/l, fiel nach fünftägiger Unterbrechung der Infusion wieder in den Normalbereich und stieg nach weiterer TRIS-Zuführung bei starker Diurese nicht über 28 mVal/l an. Der langsame aber kontinuierliche Abfall des Serumkaliums von 4,9 mVal/l auf 3,4 mVal/l am Schluß der Infusionsreihe wurde durch einen leichten Anstieg während der Infusionspause unterbrochen. Es ist zu beachten, daß diese Infusionen nur reines TRIS enthielten, ohne Zusatz von KCl und NaCl. Eine intratubuläre Hemmung der Ionenaustauschmechanismen soll ebenso die Kaliumausscheidung, wie die starke Alkalisierung des Urins, erklären (NAHAS, 1963). Demgegenüber ist zu berücksichtigen, daß bei alkalischer Stoffwechsellage ($\text{pH} > 7,4$) Kalium aus dem Extrazellulärraum in die Zelle verschoben wird und dadurch eine Hypokaliämie vorgetäuscht werden kann.

9. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit Untersuchungen zur Auflösung von Harnsäuresteinen durch TRIS-Lösungen in vitro.

Ausgehend von der Tatsache, daß die Auflösung von Harnsäuresteinen in engem Zusammenhang mit dem pH-Wert des Lösungsmittels steht, wurde TRIS-Puffer als Lösungsmittel ausgewählt.

Es wurden Harnsäuresteine von Patienten, die 1965 in der Urologischen Klinik München lagen, in vitro aufgelöst. Dabei fanden TRIS-Lösungen mit Konzentrationen von 0,06 - 3,0 % Verwendung. Weitere Messungen gaben Aufschluß über die optimale TRIS-Konzentration zur Steinauflösung in vitro und über exogene Faktoren, die die Auflösung beeinflussen.

Darüber hinaus wurde TRIS 2 Patienten infundiert und dessen Ausscheidung im Urin bestimmt.

Es wurde versucht, unter Hinzuziehung kristallographischer Erkenntnisse, den Mechanismus der Harnsäuresteinauflösung durch TRIS zu erklären.

Auf Grund dieser Befunde wurde der Versuch unternommen, auf Entstehung und Wachstum der Harnsäuresteine zu schließen.

Die Untersuchungen im Serum und insbesondere im Urin von Harnsäuresteinträgern ergaben Hinweise darauf, daß das Verhältnis des acido-basischen Gleichgewichtes und die Acidität des Urins mitbestimmende Faktoren bei Harnsäuresteinbildung und -wachstum darstellen.

Literaturverzeichnis

1. ATSELMON, de Vries, Frank Uric Acid Lithiasis,
Verlag Elsevier, Amsterdam, London,
New York 1963
2. BADENOCH, A.W. Uric Acid Stone Formation
Brit.J. of Urology 32: 374-82 (1960)
3. BARKAN, G. Über die Löslichkeit harnsaurer Salze
Biochem.Z. 146: 446-57 (1924)
4. BARKAN, G. Über die Löslichkeit harnsaurer Salze
Klin.Wschr. 1: 502 (1922)
5. BARKAN, G. Über die Löslichkeit harnsaurer Salze
Z.Biol. 76: 257-66 (1922)
6. BIEUS, E. Die Konservative Therapie der Uratsteine
Verh.Ber. d.dt.Ges.f.Urol., Wien 1963
7. BILTZ, H. Die neuere Harnsäurechemie
Joh. Ambr. Barth-Verlag Leipzig 1936, S. 164
8. BLAND, J.H. Störungen des Wasser- und Elektrolyt-
haushaltes
Verl. Gg. Thieme, Stuttgart 1959
9. BOSHAKER, K. Zur Harnsteingenese
Urol.int. 7: 28-47 (1958)
10. BOYCE, W.H.
KING, J.S.
MESCHAN, J.
FOOL, C.S. Organic Matrix of Urinary Calculi Micro-
radiographic Comparison of Crystalline
Structure with Microscopic and Histochemical
Studies.
Acta radiol. 50: 543-60 (1958)
11. BRANDENBERGER, E. Umriß einer Molekulartheorie des Kristall-
wachstums
Z.Krist. 66: 120-130 (1927)
12. BRANDENBERGER, E. A New Concept of the Alkaline Oxidation
of Uric Acids.
Experientia Bd. 12, 1956, S. 208-210
13. BROCHNER-MORTENSEN, K. Uric Acid in Blood and Urine
Acta medica Scandinavica 84: S. 1-269 (1937)
14. BROSIG, W.
KAUFMAN, J.
KLOSTERHALFEN, J. Problem der Steinauflösung
Z.Urol. 54: 245-56 (1961)
15. CHAWALLA, R. Neuere Untersuchungen zur Ätiologie der
Harnsteinbildung
Verh.Ber. dt.Ges.f.Urol. Köln 1961, S.212-219
16. DULCE, H.J. Über die Harnkolloide
Urol.int. 7: 65-73 (1958)
17. DULCE, H.J. Biochemie der Harnsteinbildung
Urol.int. 7: 137-149 (1958)

18. DULCE, H.J. Über die Harnsteinpathogenese
Der Internist 3: 684 (1962)
19. EGGERT,
HOCK,
SCHWAB Lehrbuch der physikal. Chemie
S. Hirzel Verlag, Stgt. 1960, S. 871
20. FARKAS, L. Keimbildungsgeschwindigkeit in über-
sättigten Dämpfen
Z. physikal.Chem. 125: 236 (1927)
21. FICHTER, Fr.
KERN, W. Elektrochem. Oxydationen in der Purin-
gruppe
Helvet.chim.acta 2: S. 429 (1926)
22. FISCHER, E. Synthesen in der Puringruppe
Ber.Dt.Chem. Ges. 32: 435-504 (1899)
23. FISCHER, E. Ber. 31: 3266 (1898)
24. GASSER, G. Unser Arbeitsprogramm - Ergebnisse und
Folgerungen
Urol.int. 7: 48-54 (1958)
25. GEIGY AG Wissenschaftliche Tabellen
Basel 1959
26. GUDZENT, F. Phys.-chem. Untersuchungen über das
Verhalten der Harnsäure in Lösungen
Z.physiol.Chem. 60: 25-37 (1909)
27. GUDZENT, F. Phys.-chem. Verhalten der Harnsäure
und ihrer Salze im Blut
Z.physiol.Chem. 63: 455-77 (1909)
28. GUDZENT, F. Phys.-chem. Untersuchungen über das
Verhalten der harnsauren Salze in
Lösungen
Z.physiol.Chem. 60: 38-68 (1909)
29. GUDZENT, F. Phys.-chem. Untersuchungen über das
Verhalten der harnsauren Salze in
Lösungen
Z.physiol.Chem. 56: 150-79 (1908)
30. GUTMANN, A.B.
T.F. Yü Paradoxical Retention of Uric Acid
by Uricosuric Drugs in Low Dosage
Proc. Soc.Exp. Biol.Med. 90: 542-47 (1955)
31. GUTMANN, A.
T.F.Yü
BERGER, L. Tubular Secretion of Urates in Man.
J.clin. Invest. 38: 1178-81 (1959)
32. GUTMANN, A.
T.F. Yü Study of the Effects of Salicylate in
Low, Intermediate and High Dosage
J.clin. Invest. 38: 1298-1315 (1959)
33. GUTMANN, A.
T.F. Yü Renal Regulation of Uric Acid Excretion
in Normal and Gouty Man.
Bull. N.Y.Acad.Med. 34: Nr. 5 287-95
(1958)
34. HAASE, H. Morphologie der primären Formelemente
bei Harnsteinbildung
Urol. int. 7: 96-112 (1958)

35. HAMMARSTEN, G. Die Löslichkeit der Harnsäure und primären Urate in H_2O und Salzlösungen bei $37^{\circ}C$ mit besonderer Berücksichtigung der Bildung von Ablagerungen in den Harnwegen.
C. r. Trav. Lab. Carlsberg 19: 1-66 (1932)
36. HENDERSON, L.J.
SPIRO, K. Zur Kenntnis des Ionengleichgewichts im Organismus
I. Teil über Basen- und Säuregleichgewicht im Harn
Biochem.Z. 15: 105-113 (1909)
37. HERMANN, G. Über die Harnkolloide
Urol.int. 7: 55-64 (1958)
38. HEYN, M. Beiträge zur Kenntnis der Harnsäure
Diss. 1917, Breslau
39. HIS, W.
PAUL, Th. Phys.-chem. Untersuchungen über das Verhalten der Harnsäure und ihrer Salze in Lösungen I + II
Z.physiol.Chem. 31: 1-42 u. 64-78 (1900-1901)
40. HUPPERT-NEUBAUER Analyse des Harns
C.W. Kreidel, Wiesbaden 1910
41. JUNG, A. Über die Löslichkeit der Harnsäure und ihrer Salze
Klin.Wschr. 2: 18889 (1923)
42. JUNG, A. Über den Einfluß der Pufferkapazität auf die Löslichkeit der Harnsäure
Dt.Med.Wschr. 52: 1985-86 (1926)
43. KALISTRATOS Pharmakologische Untersuchungen der Nierensteinlösungsmittel im Tierversuch,
Der Urologe 1962, S. 236
44. KANITZ, A. Die Bedeutung der zweiten Dissoziationskonstante der Harnsäure für die Gleichgewichte der Monouratlösungen
Z.physiol.Chem.: 116: 96-106 (1921)
45. KARLSON, P. Kurzes Lehrbuch der Biochemie f. Mediziner und Naturwissenschaftler
G. Thieme-Verlag, Stuttgart 1962
46. KEUTEL, H.J.
GACA, A. Beitrag zur fermentativen Kongrementauflösung im Nierenbecken
Z. Urol. 54: Heft 10 (1961)
47. KNACKE, O.
STRANSKI, J.N. Die Theorie des Kristallwachstums
Ergeb.d.exakt. Naturwiss. 26: S. 383 (1952)
48. KOBLET, H. Physikalische Begriffe in der klinischen Biochemie
Gg. Thieme, Stuttgart 1964
49. KOCH, Fr. Über die formale Genese der Harnsteine
Urol.int. 7: 91-95 (1958)
50. KOHLER, R. Die Löslichkeitsbedingungen der Harnsäure im Harn
Verh.Ber. 31.Kong.Inn.Med.1914, S.595-604

51. KOHLER, R. Untersuchungen über die übersättigten
Lösungen der Harnsäure und ihrer Salze
Z.Klin.Med. 78: 205-30 (1913)
52. KOHLER, R. Gesetzmäßigkeiten des Ausfalls in über-
KRÜGER, R. sättigten Harnsäurelösungen
Z.Klin.Med. 97: 381-93 (1923)
53. KOLLWITZ, A. Untersuchungen zur Entstehung und Behand-
lung der Harnsäuresteine
Habilitationsschrift v. 27.1.64, Berlin
54. KRIZEK Anthropolog. Merkmale und Nierensteinkrank-
heit
Sonderdruck "Dt.Z.f.Verdaunungs- und Stoff-
wechselkrankheiten"
55. v. LAUE, M. Der Wulffsche Satz für die Gleichgewichts-
form von Kristallen
Z.Krist. 105: 124 (1943)
56. LICHTWITZ, Untersuchungen über Kolloide im Urin
ROSENBACH Z.physiol. Chem. 61: (1909)
57. MARC, R. Über Kristallisation aus wässrigen Lösungen
Z.physikal.Chem. 61: 385-89 (1908)
67: 470-500 (1909)
68: 104-14 (1910)
75: 710-32 (1911)
58. MEISINGER Über den Einfluß von TRIS (hydroxymethyl)
Aminomethan auf den Stoffwechsel urämi-
scher Ratten
Diss. München 1965
59. MERRILL, J.P. Die Behandlung der Niereninsuffizienz
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin 1959
60. MIERS, H. The Growth of Crystals in Supersaturated
Liquids
Journ.Inst. of Metals (London) 37: 331-350
(1927)
61. NAHAS, G. TRIS
Clin. Pharm. Therap. 4: S. 784 (1963)
62. OTHMER, P. Über das spontane Kristallisationsvermögen
Diss. Göttingen 1915
63. v. PHILLIPSBORN, H. Zur Harnsteinbildung aus der Sicht des
Mineralogen
Urol.int. 7: 28-47 (1958)
64. PITTS, R.F. The Nature of the Renal Tubular Mechanism
ALEXANDER, R.S. for Acidifying the Urine
Am.J.Physiol. 144: 239 (1945)
65. RINGER, W.E. Über die Bedingungen der Ausscheidung von
Harnsäure und harnsauren Salzen aus ihren
Lösungen
Z.physiol.Chem. 67 (1910)

66. ROSEN, H. TRIS-Bestimmung
Ann. N.Y. Acad.Sci. 92: 414 (1961)
67. SCHADE, H. Die physiko-chem. Gesetzmäßigkeiten des
Harnsäurekolloids und der übersättigten
Harnsäurelösungen
Z.Klin.Med. 93: 1-65 (1922)
68. SCHADE, H. Über die Anomalie der Harnsäurelöslichkeit
BODEN, E. Z.physiol.Che. 83: 347-80 (1913)
69. SCHMELZ, W. Ein weiterer Fall von Auflösung von Urat-
steinen
Z. Urol. 54: 231-32 (1961)
70. SORRENTIONO, F. Exp. Untersuchungen über Möglichkeiten
einer biolog. Behandlung der Harnsäure-
steine
Z. Urol. 52: 281-92 (1959)
71. SPANGENBERG, K. Beiträge zur Kenntnis des Kristallwachs-
tums
Neues Jahrbuch f.Min., Mügge-Festband
1197-1302 (1928)
72. STAEBLER, W. Zur Auflösung von Nierensteinen mittels
Harnleiterkatheter
Mediz. 20: 1129-1130 (1951)
73. STOLZE, M. Die Chemolyse bei der Harnsteinkrankheit
Zentralblatt f.Chir. 90: S. 779 (1965)
74. STRANSKI, J.N. Zur Theorie des Kristallwachstums
Z.physikal. Chem. 136: 259 (1928)
 17: 127 (1932)
 38: 451 (1938)
75. TAMMAN, G. Kristallisieren u. Schmelzen
Leipzig 1903
76. THIELE, H. Urol.int. 7: 74-90 (1958)
77. TÖVÖK, Klin. Beziehungen des Zitronensäurestoff-
TURAY, wechselfs
KOVACS Monatsschr.f.Kinderheilkunde Heft 11 (1962)
78. UEBEL, H. Histologische Probleme der formalen Stein-
genese
Urol.int. 7: 113-136 (1958)
79. VALETON, J.J.P. Kristallform und Löslichkeit
Diss. Leipzig 1951
80. VOLMER, M. Kinetik der Phasenbildung
Dresden und Leipzig 1939
81. WINKELMANN, C. Auflösungsversuche an Harnsteinen
Z.Urol. 46: 171-78 (1953)

82. WINKLER, G.F. Struktur und Eigenschaften der Kristalle
Springer-Verlag Berlin-Göttingen-
Heidelberg 1955, S. 314
83. de YOUNG, W.F. Kristallkunde
Springer-Verlag 1959, S. 258
84. ZIEGLER, R. Oxydation von Harnsäure in alkal. Lösung
Diss. 1915, Hannover
85. ZIMMERMANN TRIS-Puffer als Therapeutikum
Dt.Med.Wschr.88 J. (1963) 1328
86. ZÖLLNER, N. Eine einfache Modifikation der enzym.
Harnsäurebestimmung
Z.klin.Chem. 1. J. Heft 6 (1963)
87. ZÖLLNER, N. Gicht
Internist 1: 333-45 (1960)
88. ZÖLLNER, N. Der Purinstoffwechsel und seine Störungen
Verhber. d. dt. Ges. Urol. Wien 1963, S.15

Nachtrag

89. BUNN, C. W. The Growth of Crystals
Discuss. Faraday Soc. 5:119(1949)
90. CLARKE, D. Zur Theorie des Kristallwachstums
Z. Physik 130:259,(1951)
91. KOSSEL, W. Über das Wachstum der Kristalle
Ann. Physik.33:651.(1938)
92. KUSCHINSKY, G. Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie
LÜLLMANN, F. 2. Aufl. Gg. Thieme Verl.Stuttgart 1966
93. SUBY, E. J. Dissolution of Urinary Calculi
J. Urol. 68: S.96-104,(1952)
94. SUCKER, J. Die Entwicklung von Lösungsstoffen
für die Chemolyse von Harnsteinen.
Der Urologe 1963 S.229
(Max-Planck-Inst.f.Kulturpfl.züchtg.
Hamburg)

Herrn Privatdozent Dr.rer.nat., Dr.med. E. Matouschek
danke ich für die freundliche Überlassung des
Themas, die Unterstützung und das fördernde Inter-
esse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte.

Herr Dr.rer.nat. G. Michal hat mich in der Methodik
der TRIS-Bestimmung beraten und unterstützt, wo-
für ich ihm an dieser Stelle danke.

LEBENS LAUF

Ich, August Kaltstein, wurde am 1. Juli 1940 als Sohn des Eisenbahninspektors August Kaltstein und seiner Ehefrau Helene, geb. Koch, in Käsmark geboren.

1946 besuchte ich die Volksschule in Vilsbiburg, 1951 die Oberrealschule in Landshut, dann in Pfarrkirchen, wo ich 1960 das Abitur ablegte.

Im Herbst 1960 begann ich das Medizinstudium an der Universität München, machte 1963 hier das Physikum und schlieÙe mein klinisches Studium 1966/67 ebenfalls in München mit dem Staatsexamen ab.

